

EFFECTO DE LA TEMPERATURA, MATRIZ VEGETAL Y TIEMPO SOBRE LA REDUCCION DEL ACIDO FOSFOMOLIBDICO

ALICIA F. DE IORIO; ALICIA RENDINA; ANA GARCIA y A. SCHOR⁽¹⁾

Recibido: 10/10/93

Aceptado: 28/12/93

RESUMEN

La influencia de la matriz vegetal, temperatura y tiempo de desarrollo de color sobre la reducción del ácido fosfomolibdico y consiguiente determinación de fósforo fue analizada a una concentración final de ácido sulfúrico de 0.5 N. El estudio se llevó a cabo empleando el Estandar de Referencia 1571 (National Bureau of Standards), a temperaturas de 6, 20, 25 y 30 °C, en un intervalo de tiempo comprendido entre 20 y 70 minutos.

Los valores de la concentración de fósforo determinados a 20, 25 y 30 °C no presentaron diferencias significativas en los distintos tiempos; además no hubo interferencia de los constituyentes del vegetal en la reacción de reducción del heteropolíácido a esas temperaturas; pero si hubo efecto de la matriz a 6 °C; por lo cual se estableció como temperaturas óptimas las comprendidas entre 20 y 30 °C.

Palabras claves: reducción, ácido fosfomolibdico, temperatura, matriz vegetal.

TEMPERATURE, VEGETAL MATRIX AND TIME INFLUENCES ON THE ACID MOLYBDOPHOSPHORIC REDUCTION

SUMMARY

The influence of the vegetal matrix, temperature and time of the colour developing on the molybdophosphoric acid reduction was analyzed at a final concentration of 0.5 N sulfuric acid.

The study was carried out using the Standard Reference Material 1571 (National Bureau of Standards) at 6, 20, 25 and 30 °C in the lapses of times within 20 and 70 minutes.

The phosphorus concentration determined at 20, 25 and 30 °C in the different times, didn't show significant differences; besides the vegetal constituents didn't interfere in the heteropoly acid reduction at these temperatures, but at 6 °C a matrix effect was found; so that it was established the optimum temperatures between 20 and 30 °C.

Key words: reduction, molybdophosphoric acid, temperature, vegetal matrix.

⁽¹⁾ Cátedra de Química Analítica - Facultad de Agronomía U.B.A., Avda. San Martín 4453 (1417) Buenos Aires

INTRODUCCION

La reacción de reducción del ácido fosfomolibdico es utilizada para la determinación cuantitativa de fósforo, dando como producto final azul de fosfomolibdeno.

Las condiciones en que se produce la reducción del heteropoliácido influyen notablemente sobre la estabilidad del complejo azul (Iorio; Rendina, *et al.*, 1991), y hacen a la misma más o menos sensible a interferencias (Harry Levine *et al.*, 1955). Temperatura, PH, tiempo, clase y cantidad de reductor tienen una fuerte incidencia en la intensidad del color azul. (Jackson 1976).

La sensibilidad de los métodos espectrofotométricos basados en esta reacción depende de las condiciones en que la misma se lleva a cabo (Djurkin *et al.*, 1966).

Uno de los métodos más sensibles parece ser aquel basado en la formación de azul de fosfomolibdeno en solución acuosa, después de la reducción del ácido fosfomolibdico con 1-amino, 2-naftol, 4-sulfónico. (Djurkin *et al.*, 1966).

Las concentraciones de fósforo en plantas son determinadas normalmente por estos métodos, no interfiriendo en la determinación ningún constituyente vegetal (Burns *et al.*, 1986). Por lo antedicho, se ha buscado en este trabajo analizar la influencia de la matriz vegetal, temperatura y tiempo sobre la reacción de reducción del heteropoliácido.

MATERIALES Y METODOS

El reductor utilizado para la reacción fue el ácido 1-amino, 2-naftol, 4-sulfónico (Chapman y Pratt, 1979).

La determinación de fósforo se llevó a cabo mediante la medición de la absorbancia del azul de fosfomolibdeno en un espectrofotómetro de absorción molecular a 680nm.

El material vegetal empleado fue el Estandar de Referencia 1571 (National Bureau of Standards), secado en estufa, a 70 °C durante 48 horas y molido. Se pesó 0,5g. de ese material y se mineralizó con 10 ml de una mezcla de ácido nítrico y ácido perclórico en la relación 5 : 1 (Rendina e Iorio 1988).

En matraces de 25 ml se tomaron alícuotas de un patrón de fósforo de 20 mg/l de forma tal de obtener dos

series de patrones, una sin matriz vegetal de 0; 0,8; 1,6; 3,2; y 4,0 mg/l de fósforo, y otra de 0+M; 0,8+M; 1,6+M; 3,2+M; y 4,0+M mg/l, correspondiendo M a 1 ml de material vegetal mineralizado. En ambas series se ajustó el PH y se llegó a una concentración final de ácido sulfúrico de 0,5 N. (Iorio y Rendina, 1991). Se agregó luego molibdato de amonio al 2,5 % y 1ml de agente reductor (Rendina e Iorio, 1988).

Las mediciones se efectuaron a intervalos de tiempo constantes y temperaturas de 6, 20, 25, y 30 °C.

RESULTADOS Y DISCUSION

Cada uno de los valores del **cuadro N° 1** son el resultado de cinco mediciones. Los r^2 para cada tiempo y temperatura indican que se cumple la ley de Beer para el intervalo de concentraciones propuesto. Comparando las dos series de patrones no se encuentran diferencias significativas ($\alpha = 0,05$) entre las pendientes para cada tiempo, en las distintas temperaturas; ese paralelismo puede deberse a que la reacción es específica, o que la matriz vegetal afecta de la misma manera a cada uno de los patrones. Para 20, 25 y 30 °C se obtienen porcentajes de recuperación de fósforo que oscilan entre 105 y 100 %. En cambio a 6 °C los porcentajes de recuperación son menores (84-87 %).

En el **cuadro N° 2** se observa que la concentración de fósforo no presenta diferencias significativas ($\alpha = 0,05$), en ambas series de patrones, para las distintas temperaturas y tiempos. Esto sumado a todo lo antedicho, indica que a 20, 25 y 30 °C no hay interferencia de los otros iones presentes en el vegetal coincidiendo con Burns y Hustsby (1986). A 6 °C, la concentración de fósforo, para la serie sin matriz, se mantiene constante entre 20 y 70 minutos ($0,16 \pm 0,01$) %, y a su vez menor a la concentración del estándar ($0,21 \pm 0,01$) % dado por la National Bureau of Standards. En cambio, en la otra serie de patrones la concentración va aumentando hasta llegar a ser constante y coincidente con el valor del estándar. Esto indica que a 6 °C la cinética de reducción del heteropoliácido influye en la determinación de fósforo, lo que sumado a porcentajes de recuperación menores a los obtenidos a 20, 25 y 30 °C lleva a concluir que si bien una baja temperatura afecta la velocidad de reacción, también hace que influyan los iones constituyentes del vegetal.

Cuadro N° 1: Ordenadas al origen y pendientes correspondientes a las dos series de patrones para cada tiempo a 30° C, a 25°C, a 20 °C y a 6°C.

TEMPERATURA 30 °C							
Tiempo (min.)	sin matriz			con matriz			% Recuperación
	0, al Origen	Pendiente	r ²	0,al Origen	Pendiente	r ²	
20	-0,0033	0,1452	0,999	0,1173	0,1458	0,999	105
30	-0,0042	0,1470	0,999	0,1730	0,1457	0,999	104
40	-0,0052	0,1488	0,999	0,1173	0,1457	0,999	103
50	-0,0049	0,1493	0,999	0,1240	0,1463	0,998	105
60	-0,0042	0,1528	0,999	0,1290	0,1454	0,995	103
70	-0,0033	0,1571	0,999	0,1175	0,1477	0,999	102

TEMPERATURA 25 °C							
Tiempo (min.)	sin matriz			con matriz			% Recuperación
	0, al Origen	Pendiente	r ²	0,al Origen	Pendiente	r ²	
20	-0,0060	0,1368	0,998	0,1195	0,1493	0,996	101
30	-0,0050	0,1405	0,998	0,1250	0,1495	0,998	100
40	-0,0054	0,1401	0,998	0,1250	0,1495	0,997	101
50	-0,0044	0,1383	0,998	0,1290	0,1530	0,997	102
60	-0,0050	0,1405	0,998	0,1268	0,1521	0,998	100
70	-0,0050	0,1405	0,998	0,1268	0,1521	0,998	100

TEMPERATURA 20 °C							
Tiempo (min.)	sin matriz			con matriz			% Recuperación
	0, al Origen	Pendiente	r ²	0,al Origen	Pendiente	r ²	
20	-0,0167	0,1393	0,979	0,1062	0,1263	0,989	104
30	-0,0167	0,1393	0,979	0,1062	0,1263	0,989	104
40	-0,01340	0,1428	0,985	0,1089	0,1226	0,995	101
50	-0,0155	0,1435	0,983	0,1143	0,1249	0,995	101
60	-0,0155	0,1435	0,983	0,1143	0,1249	0,995	102
70	-0,0155	0,1435	0,983	0,1143	0,1249	0,995	102

TEMPERATURA 6 °C							
Tiempo (min.)	sin matriz			con matriz			% Recuperación
	0, al Origen	Pendiente	r ²	0,al Origen	Pendiente	r ²	
20	-0,0006	0,1376	0,996	0,1756	0,1360	0,998	84
30	-0,0083	0,1505	0,995	0,1920	0,1392	0,999	81
40	-0,0137	0,1597	0,988	0,2022	0,1320	0,998	80
50	-0,0155	0,1643	0,988	0,2030	0,1300	0,996	83
60	-0,0170	0,1693	0,988	0,2132	0,1333	0,998	85
70	-0,0186	0,1713	0,986	0,2132	0,1333	0,998	87

Cuadro N° 2: Concentración de fósforo en %, para ambas series de patrones

TEMPE- RATURA	30° C		25 °C		20° C		6° C	
Tiempo (min.)	sin matriz	con matriz	sin matriz	con matriz	sin matriz	con matriz	sin matriz	con matriz
20	0,20±0,01	0,20±0,01	0,21±0,01	0,20±0,01	0,22±0,01	0,21±0,01	0,16±0,01	0,16±0,01
30	0,20±0,01	0,20±0,01	0,21±0,01	0,21±0,01	0,22±0,01	0,22±0,01	0,16±0,01	0,17±0,01
40	0,20±0,01	0,20±0,01	0,21±0,01	0,21±0,01	0,22±0,01	0,23±0,01	0,16±0,01	0,19±0,01
50	0,20±0,01	0,21±0,01	0,21±0,01	0,21±0,01	0,22±0,01	0,23±0,01	0,16±0,01	0,20±0,01
60	0,20±0,01	0,22±0,01	0,21±0,01	0,21±0,01	0,22±0,01	0,23±0,01	0,16±0,01	0,20±0,01
70	0,20±0,01	0,21±0,01	0,21±0,01	0,21±0,01	0,22±0,01	0,23±0,01	0,16±0,01	0,20±0,01

CONCLUSIONES

A las temperaturas de 30, 25 y 20° C no hay un efecto de la matriz vegetal presente, sobre la reacción de reducción del heteropolíácido, en un intervalo de tiempo comprendido entre 20 y 70 minutos.

Bajas temperaturas hacen que los iones de la matriz vegetal influyan sobre la reacción, lo cual se explica por la diferencia de concentraciones obtenidas para las dos series.

Por lo cual se establece como temperaturas óptimas de medición 20, 25 y 30° C en los intervalos de concentraciones y tiempos propuestos.

BIBLIOGRAFIA

- BURNS, I.G. and W., HUTSBY. (1986). Critical comparison of the vanadomolybdate and the molybdenum blue methods for the analysis of phosphate in plant sap. *Commun. in Soil Sci. Plant Anal.*, 17(8):839-852.
- CHAPMAN, H.D. y P.F., PRATT. (1979). Método de análisis por suelos, plantas y aguas. Editorial Trillas, México.
- DJURKIN, V.; KIRKBRIGHT and T.S., WEST. (1966). A Sensitive and Selective Procedure for determination of Phosphorus. *Analyst* 91:89-93.
- LEVINE, H.; ROWE J.J.; and F.S., GRIMALDI. (1955). Molybdenum Blue Reaction and determination of Phosphorus in waters containing Arsenic, Silicon, and Germanium. *Analytical Chemistry*, 27 (2):258-261.
- IORIO, A.; A., RENDINA; y colab. (1991). Estabilidad del complejo azul de fofomolibdeno, influencia de la acidez del medio y tiempo de desarrollo de color. *Rev. Facultad de Agronomía* 12 (3):249-252.
- JACKSON, M.L. (1976). Análisis Químico de Suelos. Editorial Omega. Barcelona.
- RENDINA, A. y A., IORIO (1988). Determinación absorciométrica de fósforo en plantas. *Rev. Facultad de Agronomía* 9(3): 127-130.